

**FACULDADE SETE LAGOAS - FACSETE**

**ÍGOR PACELLI FREIRE**

**OBTENÇÃO DE COMPÓSITOS MINERALIZADOS EM MATRIZ DE FIBRINA  
AUTÓLOGA E SUA IMPORTÂNCIA NA IMPLANTODONTIA**

**LAVRAS - MG**

**2018**

**ÍGOR PACELLI FREIRE**

**OBTENÇÃO DE COMPÓSITOS MINERALIZADOS EM MATRIZ DE FIBRINA  
AUTÓLOGA E SUA IMPORTÂNCIA NA IMPLANTODONTIA**

Monografia apresentada ao Curso de  
Especialização *Lato Sensu* da Faculdade  
Sete Lagoas como requisito parcial para  
conclusão do Curso de Implantodontia.  
Área de concentração: Implantodontia  
Orientador: Prof. Mário Augusto de Araújo  
Almeida

**LAVRAS-MG**

**2018**

Freire, Ígor Pacelli.

Obtenção de compósitos mineralizados em matriz de fibrina autóloga e sua importância na Implantodontia / Ígor Pacelli Freire. – 2018.

44 f.

Orientador: Mário Augusto de Araújo Almeida.

Monografia (especialização) – Faculdade Sete Lagoas, 2018.

1. i-PRF. 2. Fibrina injetável. 3. Sticky Bone.

I. Título.

II. Mário Augusto de Araújo Almeida.

**FACULDADE SETE LAGOAS - FACSETE**

Monografia intitulada “**Obtenção de compósitos mineralizados em matriz de fibrina autóloga e sua importância na Implantodontia.**” de autoria do aluno Ígor Pacelli Freire, aprovada pela banca examinadora constituída pelos seguintes professores:

---

Prof. Esp. Mário Augusto de Araújo Almeida – FACSETE/Polo Lavras – Orientador

---

Prof. Me. Ronaldo de Carvalho– FACSETE/Polo Lavras

---

Prof. Me. Sérgio Henrique Monteiro Miranda– FACSETE/Polo Lavras – Coordenador

Lavras, 14 de junho de 2018.

## **DEDICATÓRIA**

Aos meus pais, Cléber e Roseli, vocês tornaram este sonho possível, serei eternamente grato por tudo que fizeram e fazem por mim.

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente gostaria de agradecer a Deus, sem Ele esta conquista não seria possível.

Agradeço aos meus pais que sempre me apoiaram e que tornaram possível esta conquista!

Agradeço também à minha companheira Bianca por todo o apoio que me destes e pela ajuda, paciência e compreensão nos momentos onde não pude estar presente nestes 24 meses, a ti toda minha gratidão e amor.

Em especial agradeço ao meu orientador Professor Mário Augusto de Araújo Almeida, não apenas pelos ensinamentos relacionados à Implantodontia, mas também pelos puxões de orelha e pela cobrança exercida por ele. Sei que você quer apenas o nosso bem e por isso exige o melhor de nós. Gostaria também de agradecer-lo e parabeniza-lo por sua paixão para com a Odontologia, saiba que toda sua dedicação e competência com a nossa profissão é inspiradora para mim, o tenho como um exemplo de profissional no qual me espelho.

Ao Professor Sérgio Henrique Monteiro Miranda, pelos ensinamentos, paciência, competência e acima de tudo pelo seu jeito simples e humano de ensinar, meu mais sincero obrigado.

Ao Professor Ronaldo de Carvalho pela sua gentileza em sempre nos servir, muito obrigado.

Ao Professor e amigo Welliton, pela paciência e pelos ensinamentos. Exemplo de pessoa e profissional a ser seguido.

Ao Professor Heleno de Souza, por toda a ajuda e conhecimento a mim fornecidos na elaboração deste trabalho.

A todos os funcionários do IMPEO, sem a ajuda de vocês nada disso seria possível. E por fim aos meus companheiros de grupo Damaris e Miamoto, muito obrigado pela parceria, risadas e pelas dicas, podem sempre contar comigo para o que der e vier.

Muito obrigado!

“Seja você quem for, seja qual for a posição social que você tenha na vida, a mais alta ou a mais baixa, tenha sempre como meta muita força, muita determinação e sempre faça tudo com muito amor e com muita fé em Deus, que um dia você chega lá. De alguma maneira você chega lá.”

Ayrton Senna (1960 –1994)

## **RESUMO**

Desenvolvido na França em meados de 2014, para uso específico na cirurgia oral e maxilofacial, a fibrina rica em plaquetas e leucócitos injetável (i-PRF) é um concentrado de plaquetas imune de segunda geração, que contém em sua composição todos os constituintes de uma amostra de sangue favoráveis à cicatrização e imunidade, além de fornecer uma rede de fibrina muito mais densa do que aquela obtida em um processo de coagulação fisiológico. Este estudo teve como objetivo realizar uma revisão de literatura a cerca da utilização do i-PRF em conjunto com compósitos mineralizados, descrever a técnica de obtenção, suas características microbiológicas e os benefícios que o mesmo oferece em procedimentos de enxertia. O Sticky Bone aparenta ser uma alternativa viável, os benefícios clínicos para o uso sistemático do mesmo na prática diária são muitos.

**Palavras-chave:** i-PRF; Fibrina injetável; Sticky Bone.



## **ABSTRACT**

Developed in France in mid-2014, for specific use in oral and maxillofacial surgery, injectable platelet-rich fibrin and leukocytes (i-PRF) is a second-generation immune platelet concentrate containing all constituents of a blood sample that is favorable for healing and immunity, and provides a much denser fibrin network than that obtained in a physiological coagulation process. The purpose of this study was to perform a literature review on the use of i-PRF in conjunction with mineralized composites, to describe the technique of obtaining it, its microbiological characteristics and the benefits that it offers in grafting procedures. Sticky Bone appears to be a viable alternative, the clinical benefits for its systematic use in daily practice are many.

**Keywords:** i-PRF; Injectable fibrin; Sticky Bone.

## LISTA DE FIGURAS E TABELA

Tabela 1 - Fatores de crescimento e Citosinas envolvidos na regeneração e cicatrização de feridas .....	Pág. 20
Figura 1- Instrumentais utilizados no preparo do i-PRF e do L-PR .....	Pág. 29
Figura 2 - Tubos utilizados na coleta do sangue para a produção do i-PRF e do L-PRF. Os tubos de polietileno (de tampa branca) são utilizados na produção do i-PRF, enquanto que os tubos de vidro (de tampa vermelha) são utilizados na confecção do L-PRF .....	Pág. 29
Figura 3 - Centrífuga (FibrinFUGE® Montserrat) utilizada no procedimento em questão.....	Pág. 30
Figura 4a e 4b - Coleta do sangue para posterior centrifugação. O sangue deve ser colhido primeiramente nos tubos de plástico pois a sílica presente no vidro acelera o processo de coagulação .....	Pág. 30
Figura 5 - Os tubos com o sangue coletado colocados na centrífuga. Os tubos devem ser colocados sempre de forma balanceada, um de frente para o outro e sempre tubos com a mesma composição relacionando-se ..	Pág. 31
Figura 6 - Programação da velocidade de centrifugação, tempo e rpm (a centrífuga FibrinFUGE® já possui os processos pré-programados) .....	Pág. 31
Figura 7 - Tubos após centrifugação .....	Pág. 32
Figura 8 - Picotagem de uma membrana L-PRF (obtida nos tubos de vidro) para fabricação do Sticky Bone™ .....	Pág. 32
Figura 9 - Compósito mineralizado é adicionado à membrana previamente picotada .....	Pág. 33
Figura 10 - i-PRF é pipetado. A pipetagem deve ocorrer sempre da porção mais alta do tubo em direção a camada de células vermelhas, devendo esta ser interrompida ao entrar em contato com as mesmas .....	Pág. 33
Figura 11 - i-PRF é aplicado sobre a mistura de compósito mineralizado e membrana de fibrina picotada .....	Pág. 34
Figura 12 – Sticky Bone™ em sua forma final .....	Pág. 34
Figura 13a e 13b – As demais membranas de fibrina obtidas nos tubos de vidro são levadas à caixa de L-PRF, onde se tornarão membranas ou plugs de fibrina .....	Pág. 34
Figura 14 – Imagem de uma rede de fibrina obtida fisiologicamente .....	Pág. 38

Figura 15 - Imagem de uma rede de fibrina obtida com o i-PRF .....	Pág. 38
Figura 16 - Filamentos de fibrina penetrando nos poros do biomaterial .....	Pág. 39
Figura 17 – Biomaterial preso à rede de fibrina .....	Pág. 39
Figura 18 – Incorporação de proteína e micropartículas no filamentos da rede de fibrina .....	Pág. 40

## LISTA DE SÍMBOLOS, ABREVIATURAS E SIGLAS

$\mu$ l - microlitro

A-PRF - Fibrina Rica em Plaquetas Avançada

BMP - Proteína Morfogenética Óssea

Ca<sup>++</sup> - Íon Cálcio

DFDBA - Osso Liofilizado Desmineralizado

EGF - Fator de Crescimento Epidérmico

FDDBA - Osso Liofilizado Mineralizado

FGF - Fator de Crescimento Fibroblástico

FT - Fator Tecidual

FvW -Fator de von Willebrand

G - grama

IGF - Fator de Crescimento Semelhante a Insulina

i-PRF - Fibrina Rica em Plaquetas e leucócitos Injetável

KGF - Fator de Crescimento de Queratinócito

L-PRF - Fibrina Rica em Plaquetas e Leucócitos

mm - milímetro

PDGF - Fator de Crescimento Derivado de Plaquetas

PPP - Plasma Pobre Plaqueta

PRP - Plasma Rico em Plaquetas

RPM - rotação por minuto

TGF- $\alpha$ - Fator de Crescimento Transformador Alfa

TGF- $\beta$ - Fator de Crescimento Transformador Beta

VEGF - Fator de Crescimento do Endotélio

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>Pág. 12</b>
<b>2 PROPOSIÇÃO.....</b>	<b>Pág. 13</b>
<b>3 REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>Pág. 14</b>
3.1 Fisiologia da cicatrização .....	Pág. 14
3.2 Compósitos mineralizados em enxerto ósseo .....	Pág. 16
3.3 Fatores de crescimento .....	Pág. 19
3.4 Histórico e evolução dos agregados sanguíneos .....	Pág. 20
3.5 i-PRF, características e aplicações .....	Pág. 24
3.6 Fibrina rica em plaquetas e leucócitos injetável (i-PRF) e Sticky Bone™: Protocolo de obtenção segundo Leonel Alves de Oliveira (Protocolo Fibrin®) .....	Pág. 26
<b>4 DISCUSSÃO.....</b>	<b>Pág. 34</b>
<b>5 CONCLUSÃO.....</b>	<b>Pág. 41</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>Pág. 42</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Após um trauma cirúrgico, extração dentária ou perda de elemento(s) por doença periodontal, o tecido ósseo situado naquela região passa por um processo de remodelamento, o qual sofre reabsorção das paredes ósseas, principalmente da parede vestibular. Esta perda óssea pode comprometer a viabilidade de uma posterior reabilitação por implantes, fazendo com que não seja possível a instalação do mesmo em uma posição tridimensional adequada. Assim sendo, a preservação da estrutura óssea, em casos de extração dentária, ou a regeneração da mesma, em casos onde o volume de tecido ósseo não é suficiente para a instalação dos implantes, se torna necessária (JANUÁRIO et al., 2011).

Com o intuito de acelerar e otimizar o procedimento, os agregados leucoplaquetários têm sido utilizados concomitantemente com os compósitos mineralizados de escolha em procedimentos de enxertia óssea, tornando o processo mais ágil, eficaz e menos doloroso ao paciente. Além disso, esta matriz de fibrina é tida como uma fonte de fatores de crescimento, os quais são mitogênicos (proliferativos), quimiotáxicos (estimulam a migração dirigida de células) e angiogênicos, tornando-o um material osteoindutivo autógeno, o que além de excluir a chance de rejeição pelo organismo, ainda acelera a osteogênese quando comparado ao processo que ocorre de forma fisiológica.

Sendo assim, os agregados leucoplaquetários têm se estabelecido como importantes aliados na regeneração de tecidos moles e ósseos, otimizando o trabalho do cirurgião dentista e tornando o pós-operatório mais confortável para o paciente.

O objetivo do presente estudo foi realizar uma revisão de literatura acerca da utilização de compósitos mineralizados aglutinados a uma matriz de fibrina autóloga (Sticky Bone™), compreender suas características microbiológicas, seus benefícios no processo de formação óssea e suas propriedades estruturais.

## **2 PROPOSIÇÃO**

A necessidade de se obter melhores informações sobre a utilização deste agregado leucoplaquetário na Implantodontia, bem como suas propriedades microbiológicas e estruturais, despertou o interesse em desenvolver o presente estudo sobre o tema.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 Fisiologia da cicatrização

O processo de cicatrização compreende uma gama de eventos que interagem para que ocorra a restauração do tecido lesado. Desde o extravasamento de plasma, com a coagulação e agregação plaquetária até a reepitelização e remodelagem do tecido lesado, o organismo age tentando restaurar o tecido a sua forma original ou tentando chegar o mais próximo possível da mesma (MENDONÇA; COUTINHO-NETO, 2009).

O processo cicatricial é dividido convenientemente em três fases, sendo elas: inflamatória, proliferativa e remodelagem.

Mendonça e Coutinho-Neto (2009) descrevem tais fases da seguinte maneira:

A fase inflamatória inicia-se imediatamente após o trauma, sendo assim proporcional à intensidade do mesmo e tendo a duração de aproximadamente três a quatro dias. Após a ocorrência do ferimento, inicia-se o extravasamento sanguíneo que preenche a área lesada com plasma e elementos celulares, principalmente plaquetas. A agregação plaquetária e a coagulação sanguínea geram um tampão, rico em fibrina, que além de restabelecer a hemostasia e formar uma barreira contra a invasão de microrganismos, organiza uma matriz provisória necessária para a migração celular. Essa matriz servirá também como reservatório de citocinas e fatores de crescimento que serão liberados durante as fases seguintes do processo cicatricial. As plaquetas, essenciais à formação desse tampão hemostático, induzidas pela trombina, sofrem a degranulação plaquetária e liberam vários fatores de crescimento, como o (PDGF), o de crescimento transformante- $\beta$  (TGF- $\beta$ ), o de crescimento epidérmico (EGF), o de crescimento transformante- $\alpha$  (TGF- $\alpha$ ) e o fator de crescimento de células endoteliais (VEGF), além de glicoproteínas adesivas como a fibronectina e trombospondina, que são importantes constituintes da matriz extracelular provisória. A ativação da cascata de coagulação, juntamente com a liberação dos fatores de crescimento e ativação de células parenquimatosas pela lesão, produz numerosos mediadores vasoativos e fatores quimiotáticos que auxiliam o recrutamento das células inflamatórias no local da ferida. Após a saída das plaquetas de dentro do leito vascular, neutrófilos e monócitos, em resposta aos agentes quimiotáticos, migram em direção ao leito da ferida. Além da função de

[Digite texto]



fagocitose de bactérias, fragmentos celulares e corpos estranhos, essas células inflamatórias produzem fatores de crescimento, que preparam a ferida para a fase proliferativa, quando fibroblastos e células endoteliais também serão recrutados. Os monócitos do sangue periférico, tanto inicialmente quanto durante o transcorrer do processo cicatricial, continuam a infiltrar-se no local da ferida em resposta a agentes quimiotáticos. A liberação dos fatores provenientes das plaquetas, assim como a fagocitose dos componentes celulares, contribui para a ativação dos monócitos, transformando-os em macrófagos, que são as principais células envolvidas no controle do processo de reparo. O macrófago ativado é a principal célula efetora do processo de reparo tecidual, degradando e removendo componentes do tecido conjuntivo danificado, como colágeno, elastina e proteoglicanas. Além desse papel na fagocitose de fragmentos celulares, os macrófagos também secretam fatores quimiotáticos que atraem outras células inflamatórias ao local da ferida e produzem prostaglandinas, que funcionam como potentes vasodilatadores, afetando a permeabilidade dos microvasos. Os macrófagos produzem vários fatores de crescimento, tais como o PDGF, o TGF- $\beta$ , o fator de crescimento de fibroblastos (FGF) e o VEGF, que se destacam como as principais citocinas necessárias para estimular a formação do tecido de granulação.

Após o acontecimento destes eventos inicia-se a segunda fase do processo cicatricial, a fase proliferativa. Sua duração é de aproximadamente 14 dias.

A proliferação é a fase responsável pelo fechamento da lesão propriamente dito. Compreende: reepitelização, que se inicia horas após a lesão, com a movimentação das células epiteliais oriundas tanto da margem como de apêndices epidérmicos localizados no centro da lesão; fibroplasia e angiogênese, que compõem o chamado tecido de granulação responsável pela ocupação do tecido lesionado cerca de quatro dias após a lesão. Os fibroblastos produzem a nova matriz extracelular necessária ao crescimento celular enquanto os novos vasos sanguíneos carregam oxigênio e nutrientes necessários ao metabolismo celular local. A fase de proliferação epitelial, no caso da pele, inicia-se por estimulação mitogênica e quimiotática dos queratinócitos pelo TGF- $\alpha$  e EGF. Tão importante quanto à epitelização, que começa nessa fase do processo de reparo, é a formação do chamado tecido de granulação, nome atribuído, sobretudo pela característica granular devida à presença de novos capilares neoformados essenciais ao processo

de reparo. Cabe salientar que o aumento da permeabilidade microvascular é o primeiro estágio desse processo, apresentando-se como etapa importante, que permite, através do extravasamento de proteínas, citocinas e elementos celulares, a formação de matriz extracelular provisória necessária à migração e proliferação das células endoteliais.

E por fim a fase de maturação. Nesta fase do processo de cicatrização ocorre uma tentativa de recuperação da estrutura tecidual normal. É a fase marcada por maturação dos elementos e alterações na matriz extracelular, ocorrendo o depósito de proteoglicanas e colágeno. Posteriormente, os fibroblastos do tecido de granulação transformam-se em miofibroblastos comportando-se como um tecido contrátil responsivo aos agonistas que estimulam o músculo liso. Ocorre, concomitantemente, reorganização da matriz extracelular, que se transforma de provisória em definitiva, cuja intensidade fenotípica, observada nas cicatrizes, reflete a intensidade dos fenômenos que ocorreram, bem como o grau de equilíbrio ou desequilíbrio entre eles. Com o decorrer do processo de maturação e remodelagem, a maioria dos vasos, fibroblastos e células inflamatórias desaparece do local da ferida mediante processos de emigração, apoptose ou outros mecanismos desconhecidos de morte celular. Esse fato leva à formação de cicatriz com reduzido número de células. Por outro lado, se persistir a celularidade no local, ocorrerá a formação de cicatrizes hipertróficas ou queloides.

### 3.2 Compósitos mineralizados em enxertia de alvéolos pós-extração e levantamento de seio maxilar

A instalação de implantes em regiões com osso insuficiente pode gerar problemas no posicionamento dos mesmos e na forma e comprimento das coroas protéticas, das ameias e do perfil de emergência, levando a resultados estético-funcionais desfavoráveis.

Muitos materiais têm sido usados imediatamente após exodontias ou em casos de levantamento de seio maxilar com a finalidade de prevenir a perda óssea ou corrigi-la (BARRETO et al., 2013).

Vários são os fatores que influenciam diretamente um procedimento de enxertia óssea, sendo os principais entre eles: higiene oral, morfologia e extensão

do defeito ósseo, técnica operatória e habilidade do operador, e por fim, mas não menos importante o biomaterial utilizado.

Os enxertos ósseos podem ser obtidos a partir de diferentes origens. Entender estas origens e as características de cada enxerto é essencial para que possamos compreender as vantagens da utilização de agregados leucoplaquetários juntamente com os mesmos (FARDIN et al., 2010).

Segundo Barreto et al. (2013) os enxertos ósseos são classificados quanto a sua origem, sendo estas:

- Enxertos autógenos: O tecido é removido do próprio indivíduo, sendo este retirado da região doadora e levado à área receptora. Este tipo de enxerto é tido como padrão ouro, pois elimina a chance de reação imune ou de contaminação cruzada, além disso, este biomaterial possui propriedades tanto osteoindutivas quanto osteocondutivas.

- Enxerto xenógeno, heterógeno ou heterólogo: Os enxertos xenógenos são biomateriais obtidos de doadores de outras espécies, sobretudo bovinos, caprinos e suínos. Trata-se de um material com grande potencial osteocondutor e, química e fisicamente, semelhante ao osso humano.

- Enxerto alogênico, homogêneo ou homoenxerto: São enxertos provenientes de indivíduos da mesma espécie com genes não idênticos, como o osso fresco, congelado, liofilizado (FDBA), desmineralizado e liofilizado (DFDBA).

- Enxerto aloplástico: São corpos inertes, utilizados para implantação nos tecidos, como fosfato de cálcio, hidroxiapatita, biocerâmica, entre outros.

Carvalho, Bassia e Violin (2004) afirmam que o substituto ósseo ideal deve ser biocompatível e gradualmente ser substituído por novo tecido ósseo. Além disso, o mesmo deve possuir propriedade osteoindutiva e osteocondutiva.

Para melhor entendermos tal afirmativa, devemos primeiramente entender quais são as três maneiras diferentes que os enxertos ósseos podem atuar no processo de formação óssea, sendo elas descritas por Barreto et al. (2013) da seguinte forma:

- Osteogênese: Trata-se de um termo que denota os elementos celulares do enxerto que sobreviveram ao transplante e estão ativamente produzindo novo osso, ou seja, células com capacidade de estimulação de formação

de novo tecido ósseo estão presentes no material em questão. O osso autógeno é o único material de enxerto disponível que possui esta propriedade.

- **Osteoindução:** O termo refere-se ao processo no qual as células mesenquimais indiferenciadas, presentes no tecido circunjacente ao local de enxertia, são induzidas à diferenciação em células de linhagem osteogênica. A BMP e os fatores de crescimento são agentes indutores, os quais agem sobre as células mesenquimais indiferenciadas e as estimulam a se tornarem osteoblastos diferenciados, os quais atuam na formação do novo osso em questão.

- **Osteocondução:** É o processo que favorece a proliferação, migração e maturação de osteoblastos e a aposição do osso diretamente sobre o material. Os materiais osteocondutores servem como um arcabouço para a proliferação do tecido ósseo perdido, sustentando uma estrutura por onde proliferam vasos sanguíneos, os quais são responsáveis por trazer os componentes necessários para a formação óssea. Os materiais osteocondutores não apresentam reação tóxica, e os mais comuns são os enxertos xenógenos e os enxertos aloplásticos.

Conhecendo agora as propriedades presentes em cada tipo de enxerto torna-se claro que o único que possui todas as características antes mencionadas a cerca de um biomaterial ideal é o enxerto com osso autógeno, sendo este, portanto considerado o padrão ouro em enxertia. No entanto alguns fatores nos fazem repensar seu uso em alguns casos, como por exemplo, o grau de morbidade imposto ao paciente após o procedimento cirúrgico, já que ao invés de apenas uma área operada, o mesmo apresentará dois sítios cirúrgicos pós-operatórios (área doadora e área receptora). Outro fator influenciador é a velocidade com que o osso autógeno, quando utilizado em procedimento de enxertia, sofre remodelação, sendo esta muito mais rápida que os materiais de origem xenógena ou aloplástica (FARDIN et al. 2010).

Assim sendo, com a finalidade de reduzir tais complicações, os enxertos de origem xenógena são comumente utilizados em vários procedimentos. Nos procedimentos cirúrgicos realizados em nossa clínica de especialização do IMPEO, o material de escolha é o Bio-Oss®, um biomaterial xenógeno de origem bovina, tido como padrão em seu segmento.

No entanto, como antes mencionado, de acordo com Carvalho, Bassia e Violin (2004), o biomaterial de enxertia ideal deve possuir propriedades

osteocondutivas e osteoindutivas, o que se torna um problema evidente nos enxertos xenógenos, já que os mesmos não possuem a capacidade de estimular a diferenciação das células mesenquimais indiferenciadas em células de formação óssea, tendo portanto apenas capacidade osteocondutiva e não osteoindutiva, funcionando somente como um arcabouço para que a proliferação óssea ocorra no local.

Tendo em vista tal afirmativa, cirurgiões e pesquisadores buscaram uma forma de incorporar tais propriedades aos enxertos de origem xenógena e aloplástica, até que a resposta foi obtida quando a incorporação dos fatores de crescimento em tais enxertos se tornou possível por meio dos agregados plaquetários e leucoplaquetários.

Antes de falarmos sobre tais agregados precisamos compreender o que são os fatores de crescimento e de que forma agem no processo de reparação óssea.

### 3.3 Fatores de crescimento

Segundo Abbas et al. (2008), os fatores de crescimento tem como papel principal promover a sobrevivência e a proliferação celular, sendo estes fundamentais na cicatrização. Muitos destes fatores de crescimento que estão envolvidos no reparo de determinada lesão, são produzidos pelos leucócitos presentes naquela região devido ao processo inflamatório ali instalado.

Os fatores de crescimento podem agir de algumas maneiras diferentes, sendo elas:

- Parácrina: a substância afeta as células imediatamente adjacentes à célula que a secreta sem necessitar atingir a corrente sanguínea para isto.
- Autócrina: a substância age predominantemente (ou exclusivamente) na célula que a secreta.
- Endócrina: a substância age em células à distância, necessitando cair na corrente sanguínea para isso.

Os fatores de crescimento se depositam na matriz extracelular de tecidos normais na forma latente. Quando ocorre a lesão e a matriz é destruída, os fatores são liberados na forma ativada e, assim, ajudam no início e na regulação do

processo de reparo, daí a importância, também, da matriz extracelular na regeneração das feridas.

A tabela abaixo mostra alguns tipos de fatores de crescimento, sua origem e a sua função (ABBAS et al. 2008).

**Tabela 1: Fatores de crescimento e Citosinas envolvidos na regeneração e cicatrização de feridas<sup>1</sup>**

TABELA 3-1 Fatores de Crescimento e Citocinas Envolvidos na Regeneração e Cicatrização de Feridas			
Fator de Crescimento	Símbolo	Fonte	Funções
Fator de crescimento epidérmico $\alpha$	EGF	Plaquetas, macrófagos, saliva, urina, leite, plasma	Mitogênico para ceratinócitos e fibroblastos; estimula a migração de ceratinócitos e formação do tecido de granulação
Fator de crescimento transformador- $\alpha$	TGF- $\alpha$	Macrófagos, linfócitos T, ceratinócitos e muitos tecidos	Semelhante ao EGF; estimula a replicação de hepatócitos e muitas células epiteliais
EGF de ligação à heparina	HB-EGF	Macrófagos, células mesenquimais	Replicação de queratinócitos
Fator de crescimento do hepatócito fator dispersante	HGF	Células mesenquimais	Aumenta a proliferação de hepatócitos, células epiteliais e células endoteliais; aumenta a motilidade celular, replicação de ceratinócitos
Fator de crescimento celular endotelial vascular (isoformas A, B, C, D)	VEGF	Muitos tipos celulares	Aumenta a permeabilidade vascular; mitogênico para células endoteliais (Tabela 3-3); angiogênese
Fator de crescimento derivado de plaquetas (isoformas A, B, C, D)	PDGF	Plaquetas, macrófagos, células endoteliais, ceratinócitos, células musculares lisas	Quimiotático para PMN, macrófagos, fibroblastos e células musculares lisas; ativa PMN, macrófagos e fibroblastos; mitogênico para fibroblastos, células endoteliais e células musculares lisas; estimula a produção de MMP, fibronectina e AH; estimula a angiogênese e contração da ferida
Fator de crescimento dos fibroblastos 1 (ácido), 2 (básico) e família	FGF	Macrófagos, mastócitos, linfócitos T, células endoteliais, fibroblastos	Quimiotático para fibroblastos; mitogênico para fibroblastos e queratinócitos; estimula a migração dos ceratinócitos, a angiogênese, a contração da ferida e a deposição de matriz
Fator de crescimento transformador- $\beta$ (isoformas 1, 2, 3); outros membros da família são as BMP e a ativina	TGF- $\beta$	Plaquetas, linfócitos T, macrófagos, células endoteliais, ceratinócitos, células musculares lisas, fibroblastos	Quimiotático para PMN, macrófagos, linfócitos, fibroblastos e células musculares lisas; estimula a síntese de TIMP, a angiogênese e a fibroplasia; inibe a produção de MMP e a proliferação de ceratinócitos
Fator de crescimento de ceratinócitos (chamado também de FGF-7)	KGF	Fibroblastos	Estimula a migração, proliferação e diferenciação de ceratinócitos
Fator de necrose tumoral	TNF	Macrófagos, mastócitos e linfócitos T	Ativa macrófagos; regula outras citocinas; múltiplas funções

BMP, proteínas morfogenéticas do osso; AH, ácido hialurônico; MMP, metaloproteinases de matriz; PMN, leucócitos polimorfonucleares; TIMP, inibidor tecidual de MMP.

Modificado de Schwartz SI: Principles of Surgery. New York, McGraw-Hill, 1999.

Portanto, torna-se claro a função dos fatores de crescimento no processo cicatricial, e sabendo que os agregados leucoplaquetários são portadores dos mesmos, é evidente o benefício que estes trazem ao procedimento.

### 3.4 Histórico de evolução dos agregados leucoplaquetários

A busca por materiais que pudessem acelerar e otimizar o processo de cicatrização de tecidos acometidos por algum trauma, seja este acidental ou

<sup>1</sup>Fonte: ABBAS et al. (2008).

cirúrgico, é algo que sempre foi estudado. Alguns fatores influenciam diretamente na utilização destes em seres humanos, destacando se entre eles a biocompatibilidade e o custo.

No final da década de 70, com o avanço da ciência, foram produzidos na Europa os primeiros selantes cirúrgicos derivados do sangue. Estes tinham por função similar a fase final do processo de coagulação, sendo portanto utilizados para fins de hemostasia, auxílio na cicatrização de tecidos moles e, por fim, usados em conjunto à enxertia óssea (PRAKASH; THAKUR, 2011).

Posteriormente, os pesquisadores tentaram incluir as propriedades das fibrinas e fatores de crescimento ao material, para que estes pudessem ser levados diretamente sobre o local da lesão, acelerando e melhorando assim o processo de regeneração (PRAKASH; THAKUR, 2011).

Com o avanço dos estudos sobre as propriedades cicatriciais das plaquetas, apresentou-se à comunidade de cirurgia oral o Plasma Rico em Plaquetas (PRP) (WHITMAN et al., 1997 *apud* FREYMILLER; AGHALOO, 2004). O PRP é uma concentração autóloga de plaquetas em um pequeno volume de plasma, o que proporciona uma aceleração na regeneração óssea, graças a várias estruturas presentes em sua composição, em especial os fatores de crescimento. Devido ao fato deste ser de origem autóloga, elimina-se assim as possibilidades de transmissão de doenças ou reações imunogênicas que existe com preparados alógenos ou xenógenos (CAMARGO et al., 2012).

Segundo Marx et al. (1998), os concentrados de plaquetas são preparações autólogas, portanto, eliminam o risco de transmissão de doenças e reações imunológicas, sem risco de infecções e podem trazer benefícios ao paciente.

Inúmeros protocolos de obtenção do PRP foram descritos, embora estes se diferenciem em alguns processos ou materiais utilizados, algumas características se mantem fiéis em todos eles. Em todos os protocolos, o sangue é colhido para tubos com anticoagulante, antes ou durante a cirurgia, e imediatamente processado por centrifugação, sendo que duração de todo processo geralmente é inferior à uma hora. A primeira centrifugação à que o sangue é sujeito tem por objetivo a separação do sangue em três camadas. Na porção mais inferior encontram-se os glóbulos vermelhos, na porção central do tubo deposita-se a “buffy coat” (camada onde se encontram a maioria das plaquetas e dos leucócitos) e na porção superior acumula-

se um sobrenadante acelular, nomeado Plasma Pobre em Plaquetas (PPP). O passo seguinte, embora os processos variem de protocolo para protocolo, consiste na tentativa de separação dos glóbulos vermelhos e do PPP, para que finalmente se recolha a camada leucoplaquetária. Esta é posteriormente aplicada no local desejado, após a adição de trombina e/ou cloreto de cálcio para que se consiga a pretendida ativação plaquetária e polimerização de fibrina (EHRENFEST; RASMUSSEN; ALBREKTSSON, 2008).

Choukroun et al. (2006), desenvolveram um protocolo onde o sangue era colhido em tubos, sem a adição de qualquer tipo de anticoagulante ou qualquer outro aditivo, e imediatamente centrifugado. Esse novo protocolo faz com que a coagulação ocorra de forma completamente natural e permite a obtenção de uma matriz firme de fibrina, com uma arquitetura tridimensional complexa, onde estão concentrados a maioria das plaquetas e leucócitos do sangue colhido. Para a obtenção da mesma, é necessário realizar uma punção venosa, onde o sangue é coletado em tubos de 10ml e imediatamente centrifugado a 2.700 rpm (aproximadamente 400g de força) por 12 minutos. O fibrinogênio é inicialmente concentrado na parte alta do tubo, antes da trombina circulante transformá-lo em fibrina. Um coágulo de fibrina é então obtido no meio do tubo, entre os glóbulos vermelhos da parte inferior e de plasma acelular na parte superior (DOHAN et al., 2006; CHOUKROUN et al., 2006).

Além dos fatores antes mencionados, esta matriz é tida como uma fonte de fatores de crescimento, os quais são mitogênicos (proliferativos), quimiotáticos (estimulam a migração dirigida de células) e angiogênicos (estimulam a formação de vasos sanguíneos novos), tornando-o um material osteoindutivo autógeno, o que além de excluir a chance de rejeição pelo organismo, ainda acelera a osteogênese quando comparado ao processo que ocorre de forma fisiológica, além de reduzir o custo e a dificuldade do processo como um todo (AGRAWAL; AGRAWAL, 2014; CHOUKROUN et al., 2006).

Curiosamente, esta rede de fibrina leucoplaquetária (L-PRF) é também um suporte para células mesenquimais, onde diferentes tipos de células tais como osteoblastos, poderiam diferenciar-se e proliferar quando cultivadas na PRF rico em leucócitos (L-PRF) (GHANNATI et al., 2014).



Um estudo em coelhos testou os resultados do L-PRF em preenchimento de defeitos peri-implantares (3 mm x 5 mm). Os implantes instalados apresentavam medidas de 3 mm de diâmetro por 8 mm de altura. Na análise histomorfométrica após oito semanas de pós-operatório, os autores observaram que a média de formação óssea foi de 29,30% ( $\pm$  7,5%) para o grupo L-PRF, e 11,06% ( $\pm$  8,94%) para o grupo controle ( $P = 0,02$ ). A média de contato osso/implante foi de 39,43% ( $\pm$  7,39%) para o grupo L-PRF e 7,11% ( $\pm$  8,12%) para o grupo controle ( $p = 0,006$ ). Neste modelo animal, defeitos peri-implantares foram reparados com sucesso com o uso de L-PRF apresentando resultados estatisticamente significantes (LEE et al., 2012).

Em um trabalho de acompanhamento longitudinal, 23 levantamentos de seio maxilar foram realizados com instalação imediata dos implantes. Ao final do experimento 20 pacientes receberam um total de 52 implantes (19 AstraTech, Molndal, Suécia, e 33 Intra-LockOssean, Boca Raton, EUA). Foram utilizados membranas e tampões de L-PRF para cobrir a membrana sinusal e preenchimento dos espaços existentes entre os implantes que serviram de apoio para manter o afastamento da membrana sinusal. Foram realizadas radiografias pré-operatórias, após seis meses, um ano e a cada ano seguinte. O acompanhamento mínimo foi de dois anos e o máximo de seis anos. Nenhum implante foi perdido. Todos os casos tinham um osso residual de 1 mm a 3 mm e o ganho vertical de osso foi, em média, 10,4 mm (variando entre 8,5 mm a 12 mm) (SIMONPIERI et al., 2011).

Em 2014, um novo protocolo para L-PRF foi desenvolvido (denominado Avançado-PRF ou A-PRF). Para sua produção as forças centrífugas foram reduzidas e o tempo total de spin foi aumentado (GHANAATI et al., 2014). Enquanto o L-PRF padrão é centrifugado a 2700 rpm durante 12 min, o A-PRF é centrifugado a velocidades mais lentas (1500 rpm, 14 min). Esta modificação no protocolo de centrifugação promove um aumento no número de células (Monócitos e Macrófagos) ao final do protocolo (FUJIOKA-KOBAYASHI et al., 2016).

Dando continuidade a esta segunda geração dos agregados leucoplaquetários (L-PRF), e chegando ao estado mais atual, pesquisadores desenvolveram uma formulação de manipulação mais simplificada e que possibilita novas aplicações aos agregados leucoplaquetários: a fibrina rica em plaquetas injetável (i-PRF).

O i-PRF é uma formulação líquida do L-PRF, que, assim como em seu antecessor, não é utilizado qualquer tipo de anticoagulante no processo de obtenção do mesmo. Este apresenta uma quantidade mais elevada de fatores de crescimento em sua composição quando comparado ao L-PRF normal (MIRON et al., 2017).

### 3.5 i-PRF, características e aplicações da nova geração dos agregados leucoplaquetários

Em meados de 2014, na França, pesquisadores desenvolveram um protocolo bastante similar ao que é utilizado para a fabricação das membranas de L-PRF, contudo, devido à algumas variantes em seu processo de obtenção, a mesma é obtida na forma líquida, recebendo o nome de fibrina rica em plaquetas injetável (i-PRF), podendo esta ser utilizada de várias formas, seja através da injeção subgengival e subdérmica ou obtenção de um Compósito Mineralizado em Matriz de Fibrina Autóloga (Sticky Bone™) com uso de biomateriais particulados para enxertos agregados à mesma.

O i-PRF é uma nova alternativa como agregado leucoplaquetário para diferentes áreas da Medicina e Odontologia. Por ser autógeno, diminui as chances de reações adversas ao material implantado, principalmente as imunomediadas, como ocorrem com outros tipos de enxertia, o que o credencia como opção viável nos procedimentos regenerativos (ALIJOTAS-REIG; FERNANDES-FIGUERAS; PUIG, 2013).

Tendo em mãos os benefícios da utilização do L-PRF em forma de membranas, os pesquisadores buscaram desenvolver uma formulação injetável da mesma (denominado i-PRF), com o objetivo de proporcionar aos cirurgiões-dentistas e médicos uma maneira mais simples e rápida de usar o concentrado leucoplaquetário, fazendo com que este possa ser utilizado sozinho ou facilmente combinado com outros biomateriais. Devido à velocidade de centrifugação mais lenta e um tempo de centrifugação mais curto, uma maior presença de células regenerativas e uma concentração mais alta de fatores de crescimento é encontrada nesta forma (i-PRF) quando comparado com outras formulações de L-PRF que utilizam velocidades e tempos de centrifugação maiores (GHANNATI et al., 2014; FUJIOKA-KOBAYASHI et al., 2016).

A possibilidade de se ter todos os benefícios histológicos da membrana de L-PRF porém na forma líquida abre novos horizontes na utilização dos agregados leucoplaquetários, e o fato do mesmo poder ser utilizado de forma aglutinada com biomateriais para enxertia óssea cria uma alternativa ao uso PRF na regeneração óssea (MOURÃO et al., 2015).

A utilização deste agregado leucoplaquetário na forma líquida (i-PRF), além de simplificar a manipulação, traz vantagens enormes ao procedimento, como por exemplo, a liberação prolongada de fatores de crescimento, já que nesta forma líquida a mesma ocorre por até 10 dias após sua aplicação (MIRON et al., 2017).

Miron et al. (2017) realizaram um estudo comparativo entre o PRP padrão e o i-PRF (centrifugadas a 700 rpm (60 g) durante 3 min), estes foram comparados quanto à: liberação de fatores de crescimento, biocompatibilidade de fibroblastos, migração e proliferação dos mesmos, e por fim a expressão de PDGF, TGF-  $\beta$ , e collagen1 aos 3 e 7 dias. Com relação à liberação de fatores de crescimento, foi obtido que no geral o PRP obteve maior liberação de fatores de crescimento a curto prazo, ao passo que a i-PRF mostrou níveis significativamente mais elevados de liberação a longo prazo de PDGF-AA, PDGF-AB, EGF e IGF-1, tendo este ocorrido por um período de até 10 dias. O PRP apresentou níveis mais elevados de TGF-  $\beta$  1 e VEGF em 10 dias. Enquanto ambas as formulações exibiram uma elevada biocompatibilidade e maior migração de fibroblastos, a i-PRF induziu significativamente a produção de um maior número destas células, ao passo que a migração das mesmas ocorreu de forma mais significativa no PRP. Além disso, a i-PRF apresentou níveis bem mais elevados de ARNm de TGF-  $\beta$  ao final de 7 dias, de PDGF em 3 dias, e de collagen1 em ambas as datas (3 e 7 dias) quando comparado com PRP.

Uma outra vantagem do i-PRF em relação aos demais agregados leucoplaquetários é que quando estes eram utilizados em enxertias ósseas com compósitos mineralizados causavam um colapso da membrana sobre o osso, o que pode limitar o espaço necessário para a maturação do coágulo. Quando utilizado o i-PRF não se tem este problema, já que o compósito mineralizado é aglutinado ao mesmo, tornando-o um biomaterial de corpo único, sendo então chamado de Sticky Bone™ (ROSAMMA; SAM; VIJAY, 2014).

Reforçando a eficácia e os benefícios da utilização do i-PRF, um estudo demonstrou que modificações na velocidade de centrifugação e no tempo, com o conceito de baixa velocidade, favorecem o aumento na concentração de fatores de crescimento, que impactam diretamente na melhoria do processo de cicatrização (FUJIOKA-KOBAYASHI et al., 2016).

Lorenz e Longaker (2006) ainda demonstrando os benefícios e vantagens da utilização do i-PRF, afirmaram que o fator de crescimento, utilizado em doses farmacológicas, tem efeito benéfico no processo de cicatrização, acelerando as taxas de cura em feridas normais ou, em alguns casos, em feridas de difícil cicatrização, como as feridas diabéticas.

O fato do i-PRF apresentar uma quantidade de fatores de crescimento mais elevada pode ser explicada devido ao processo de obtenção do mesmo. Masuki et al. (2016) afirmam que alterações nas características mecânicas do processo de centrifugação estão diretamente relacionadas aos níveis de fatores de crescimento presentes no produto final.

Além de poder ser utilizado concomitantemente à compósitos mineralizados em procedimentos de enxertia óssea (Sticky Bone™) o i-PRF pode ser usado para vários outros procedimentos, otimizando assim os resultados obtidos nos mesmos. Como exemplos de sua aplicabilidade podemos citar:

- Aplicar sobre biomateriais
- subgengival bioestimulação do tecido conjuntivo por meio de injeção do mesmo no tecido subgengival
- Injeção intradérmica para rejuvenescimento facial

### 3.6 Fibrina rica em plaquetas injetável (i-PRF) e Sticky Bone™: protocolo de obtenção segundo Leonel Alves de Oliveira (Protocolo Fibrin®)

O i-PRF é um agregado leucoplaquetário da segunda geração, o qual pode ser utilizado para diferentes áreas da Medicina e Odontologia, possibilitando aos especialistas melhorias nos resultados de cicatrização dos tecidos moles e duros que forem estimulados por este. Por ser autógeno, diminui as chances de reações adversas ao material implantado, principalmente as imunomediadas, como ocorrem

com outros tipos de enxertia, o que reforça sua viabilidade nos procedimentos regenerativos (MOURÃO et al., 2015).

O processo para a obtenção da fibrina é simples e de baixo custo. Vários protocolos foram desenvolvidos para a obtenção do i-PRF, este estudo apresenta o Protocolo Fibrin®, descrito por Oliveira et al. (2018), que consiste nos seguintes passos:

1. Antes de realizar a coleta deve-se identificar os tubos com o nome do paciente e separar todo material de coleta. Este procedimento deve ser realizado rapidamente, uma vez que a fibrina apresenta polimerização rápida após a ativação plaquetária. Portanto, a coleta deverá ser realizada ao final do trans operatório. Caso a obtenção da fibrina seja para uso de forma aglutinada à algum compósito mineralizado, a coleta poderá ser feita anteriormente à cirurgia.

2. Garrotear o braço e identificar a veia mais calibrosa para a venopunção, preferencialmente a veia intermédia antecubital.

3. Realizar antissepsia no local com swab de álcool 70%, único movimento descendente.

4. Introduzir a agulha do cateter agulhado com bisel voltado para cima com angulação de 15 a 30°.

5. Apoiando-se no adaptador de agulhas, introduzir os tubos de Polietileno sem ativador de coágulo e aguardar o total preenchimento. No último tubo, retirá-lo e só depois remover a agulha comprimindo a veia puncionada com um rolete de algodão, orientando o paciente a não dobrar o braço.

6. Levar os tubos à centrífuga imediatamente

- a. Protocolo Fibrin Estético – Aplicação injetável

- i. 150G /5 minutos

- b. Protocolo Fibrin Cirúrgico (Coágulos e Fase Líquida) – Aplicação Cirúrgica

- i. 200G/10 minutos

7. Voltar ao paciente e aplicar o curativo.

8. Ao final da centrifugação, recolher os tubos e remover o sobrenadante de imediato utilizando pipeta Pasteur ou seringa plástica ou de vidro.

- a. Indicações

- i. Aplicar sobre o biomaterial

1. O i-PRF fornece maior volume e maior celularidade pela remoção controlada do pellet leucocitário
  - ii. Injeção no tecido subgengival para bioestimulação do tecido conjuntivo
  - iii. Injeção intradérmica para rejuvenescimento facial
  - iv. Otimização da agregação plaquetária no preparo de matriz sanguínea mineralizada
    1. Coletar o sobrenadante com seringa ou pipeta Pasteur com agulha calibrosa e bisel voltado para o pellet leucoplaquetário para coleção celular
    2. Picotar uma membrana de fibrina e misturá-la ao biomaterial.
    3. Aplicar sobre o biomaterial, aguardar a polimerização, já em contato com o biomaterial, levar ao leito cirúrgico receptor.
    4. Levar o biomaterial sem hidratação ao leito receptor, e in loco, aplicar o i-PRF e aguardar a polimerização.
9. Ao final da etapa cirúrgica, aplicar a malha de fibrina recobrimdo o sítio cirúrgico de acordo com a aplicação.
- a. Obs: Descarte do conteúdo sanguíneo residual
  - b. Aplicar gotas de hipoclorito no interior do tubo e desprezar o material no esgoto comum.
  - c. Descartar os tubos de vidro no coletor de pérfuro-cortantes.



Figura 1: Instrumentais utilizados no preparo do i-PRF e do L-PRF.<sup>2</sup>

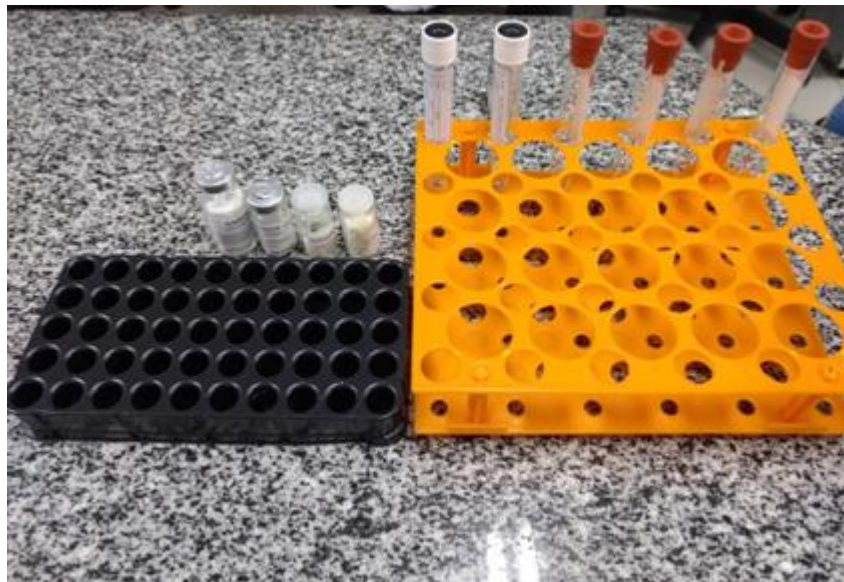


Figura 2: Tubos utilizados na coleta do sangue para a produção do i-PRF e do L-PRF. Os tubos de tampa branca (de polietileno) são utilizados na produção do i-PRF, enquanto que os tubos de tampa vermelha (de vidro) são utilizados na confecção do L-PRF.<sup>3</sup>

<sup>2-3</sup> Fonte: Elaborada pelo autor (2018).



Figura 3: Centrífuga (FibrinFUGE25® Montserrat) utilizada no procedimento em questão.<sup>4</sup>



Figuras 4a e 4b: Coleta do sangue para posterior centrifugação. O sangue deve ser colhido primeiramente nos tubos de plástico, pois a sílica presente no vidro acelera o processo de coagulação.<sup>5</sup>

<sup>4-5</sup> Fonte: Elaborada pelo autor (2018).





Figura 5: Tubos com o sangue coletado colocados na centrífuga. Os tubos devem ser colocados sempre de forma balanceada, um de frente para o outro e sempre tubos com a mesma composição relacionando-se.<sup>6</sup>



Figura 6: Programação da velocidade de centrifugação, tempo e rpm (a centrífuga FibrinFUGE® já possui os processos pré-programados).<sup>7</sup>

<sup>6-7</sup> Fonte: Elaborada pelo autor (2018).



Figura 7: Tubos após a centrifugação.<sup>8</sup>

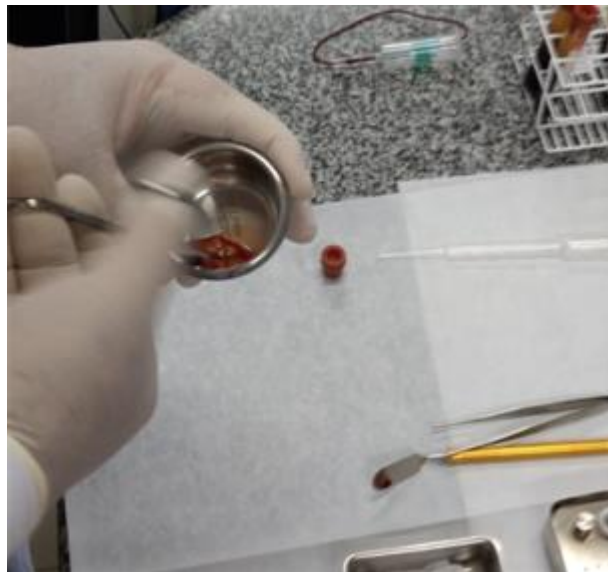


Figura 8: Picotagem de uma membrana L-PRF (obtida nos tubos de vidro) para fabricação do Sticky Bone™.<sup>9</sup>

<sup>8-9</sup> Fonte: Elaborada pelo autor (2018).



**Figura 9: Compósito mineralizado é adicionado à membrana previamente picotada.<sup>10</sup>**



**Figura 10: i-PRF é pipetado. A pipetagem deve ocorrer sempre da porção mais alta do tubo em direção à camada de células vermelhas, devendo esta ser interrompida ao entrar em contato com as mesmas.<sup>11</sup>**

<sup>10-11</sup> Fonte: Elaborada pelo autor (2018).

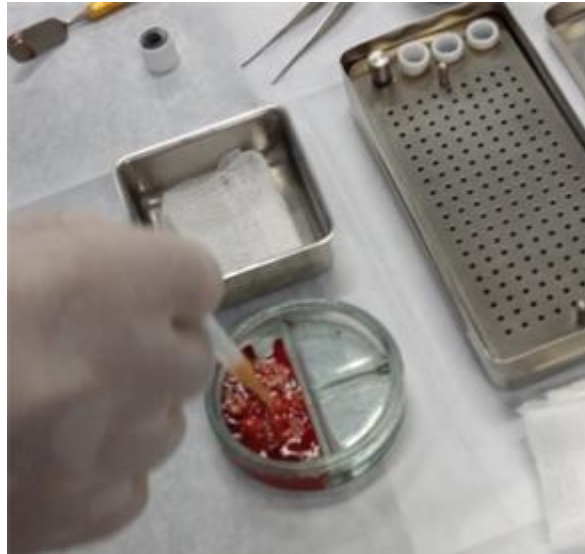


Figura 11: i-PRF é aplicado sobre a mistura de composto mineralizado e membrana de fibrina picotada.<sup>12</sup>



Figura 12: Sticky Bone™ em sua forma final,<sup>13</sup>



Figuras 13a e 13b: As demais membranas de fibrina obtidas nos tubos de vidro são levadas à caixa de L-PRF, onde se tornarão membranas ou plugs de fibrina.<sup>14</sup>

<sup>14</sup> Fonte: Elaborada pelo autor (2018).

## 4 DISCUSSÃO

A reparação de tecidos é um desafio constante na área da Odontologia. A utilização dos compósitos mineralizados em procedimentos de enxertia óssea tornou-se um artifício muito comum na prática odontológica por proverem um arcabouço rígido, mineralizado e de lenta reabsorção que em conjunto com elementos sanguíneos produzem um ambiente ideal para a neovasclogênese e acomodação das células indiferenciadas envolvidas na neoformação óssea. Portanto, levando em conta que as reconstruções ósseas são procedimentos de alta relevância no meio odontológico, tanto pela questão funcional quanto pela questão estética, compreender como ocorre a relação dos substitutos ósseos com os elementos sanguíneos e suas fases na neoformação óssea pode auxiliar na compreensão da mesma (OLIVEIRA et al., 2017).

Em um procedimento de enxertia óssea o biomaterial é levado ao leito cirúrgico, onde o mesmo ficará aderido a uma rede de filamentos composta por fibrilas de fibrina, glicoproteínas adesivas e várias outras proteínas plasmáticas. Esta rede de fibrina, oriunda do processo de coagulação, é obtida pela clivagem do fibrinogênio que é convertido em monômeros de fibrina. Ela atua no leito dos tecidos lesados como uma espécie de arcabouço tridimensional, atuando na hemostasia e servindo de suporte para a acomodação, migração e adesão (devido à presença das glicoproteínas adesivas) de fatores de crescimento e das células envolvidas na neoformação óssea e na neovascularização (MIRON et al., 2017; OLIVEIRA et al., 2017).

Ferreira et al. (2010) explicam que esta rede de fibrina é formada fisiologicamente durante o processo de coagulação, onde a hemostasia ocorre por meio da inter-relação dos processos físicos, celulares e bioquímicos que atuam em uma série de estágios ou fases. Neste modelo podemos dividir o processo de formação do coágulo em três fases, sendo elas:

Fase de iniciação: Ocorre quando as células que expressam o fator tecidual (FT) em sua superfície são expostas aos componentes do sangue no local da lesão. O FT se liga ao FVII presente no sangue, o ativando rapidamente em FVIIa e formando assim o complexo FVIIa/FT o qual é responsável pela ativação de pequenas quantidades de FIX e FX. O FXa associa-se ao seu cofator, FVa,

formando assim um complexo denominado protrombinase, o qual permanece na superfície das células que apresentam o FT. Este complexo transforma pequenas quantidades de protrombina (Fator II) em trombina que são insuficientes para formação do coágulo final de fibrina, mas são de total importância nas seguintes fases (FERREIRA et al., 2010; FRANCO, 2001).

**Fase de amplificação:** O processo da coagulação segue para a fase de amplificação somente quando há dano vascular, permitindo que plaquetas e FVIII (ligado ao fator de Von Willebrand) entrem em contato com o tecido extravascular onde se aderem às células que expressam FT (FERREIRA et al., 2010).

A trombina gerada pelas células que possuem FT ativam as plaquetas, que expõem receptores e sítios de ligação para os fatores da coagulação ativados. Como resultado desta ativação as plaquetas alteram a permeabilidade de suas membranas, permitindo a entrada de íons cálcio ( $Ca^{++}$ ) e a saída de substâncias quimiotáticas que atraem os fatores da coagulação para sua superfície, além de liberarem FV parcialmente ativados. Além disto, a trombina ativa os cofatores FV e FVIII na superfície das plaquetas ativadas. O complexo FVIII/FvW é dissociado, permitindo o FvW mediar a adesão e agregação plaquetárias no sítio da lesão. Além disso, pequenas quantidades de trombina ativam o FXI a FXIa na superfície das plaquetas durante essa fase (FERREIRA et al., 2010).

Simultaneamente, por mecanismos quimiotáticos, os fatores mencionados são atraídos à superfície das plaquetas onde se inicia rapidamente a fase de propagação (FERREIRA et al., 2010; FRANCO, 2001).

**Fase de propagação:** Esta fase é caracterizada pelo recrutamento de um grande número de plaquetas para o sítio lesionado e pela produção dos complexos tenase e protrombinase na superfície destas plaquetas ativadas. O FIXa, ativado na fase de iniciação ou produzido pelo FXIa, se liga ao FVIIIa na superfície das plaquetas e formam o complexo tenase. O complexo tenase (FIXa/FVIIIa) produz diretamente na superfície das plaquetas uma maior quantidade de FXa que rapidamente se liga ao FVa (aderido na superfície da plaqueta durante a fase de amplificação) resultando assim no complexo protrombinase, o qual converte grande quantidade de protrombina em trombina (FERREIRA et al., 2010).

A trombina (Fator IIa) exibe atividades pro coagulantes, convertendo o fibrinogênio em monômeros de fibrina, promovendo ativação plaquetária e ativando

o fator XIII da coagulação, que, por sua vez, estabiliza o coágulo de fibrina (FRANCO, 2001).

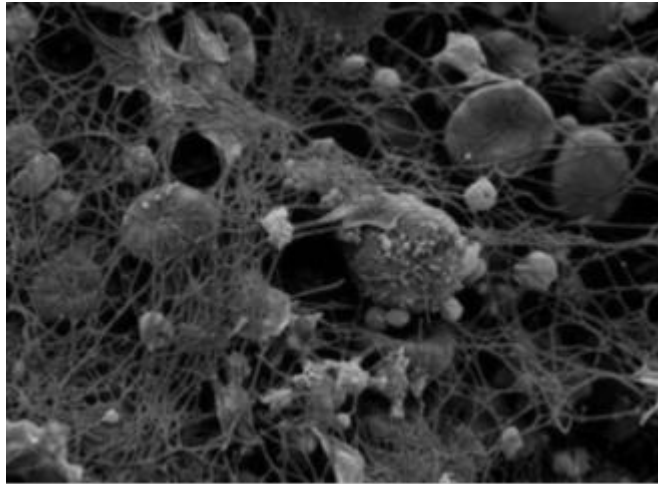
Oliveira et al. (2017) explicam que esta malha de fibrina é fundamental no processo regenerativo, pois, graças à presença de glicoproteínas adesivas em sua estrutura, a adesão de fatores de crescimento, biomateriais de enxertia e células moduladoras, tais como os fibroblastos e as células-tronco mesenquimais (diretamente envolvidas nos processos angiogênicos e reconstrutivos), se torna possível.

Tazima, Vicente e Moriya (2008) mostram que em um processo de coagulação fisiológica a formação desta rede de fibrina só ocorre por volta do terceiro dia, durante a fase proliferativa do processo inflamatório, e perdura até o momento em que a plasmina (oriunda do plasminogênio) realiza a fibrinólise da mesma e por consequente a reativação do fluxo sanguíneo.

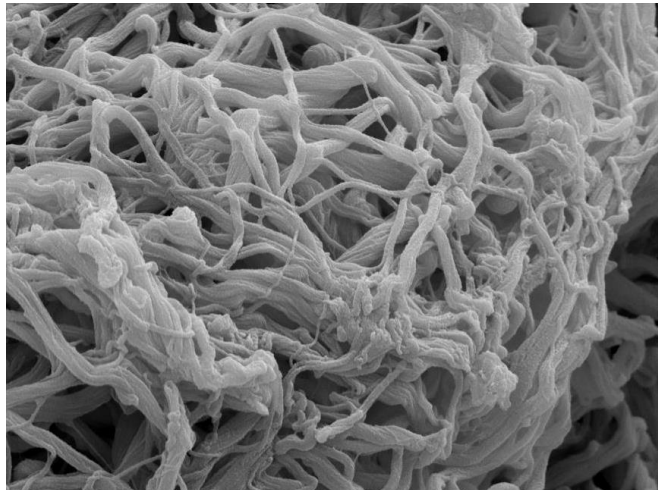
Em contra partida, nos procedimentos de enxertia onde utilizam-se agregados sanguíneos (i-PRF, Stick Bone™, L-PRF, a-PRF) esta rede de fibrina é levada imediatamente ao leito cirúrgico. Por possuir células de defesa em sua composição, a rede de fibrina proveniente destes agregados sanguíneos reduz o processo inflamatório inicial da região lesada e promove um aumento na defesa contra microrganismos nocivos ao procedimento (SOHN et al., 2015; MIRON et al., 2017; MOURÃO et al., 2015).

Oliveira et al. (2017) e Oliveira et al. (2018) ainda afirmam que rede de fibrina formada pelo processo de coagulação fisiológico, quando comparada com a rede obtida pelo método do i-PRF, apresenta diferenças significativas, sendo que aquela obtida através do protocolo i-PRF apresenta uma estrutura morfológica muito mais densa, com uma presença de glicoproteínas adesivas bem mais elevada, alta concentração de plaquetas, micropartículas circulantes, fatores de crescimento em níveis mais elevados e leucócitos mononucleares.





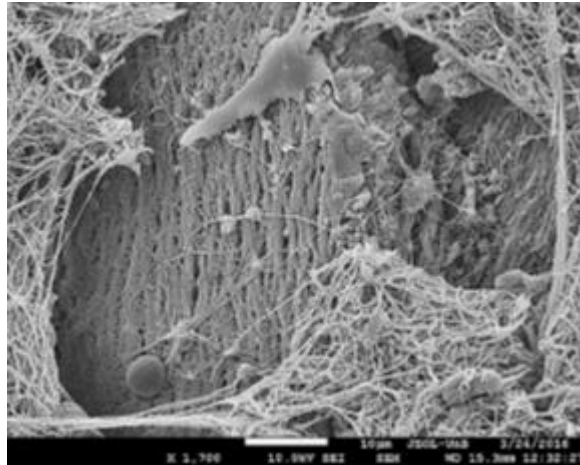
**Figura 14: Imagem de uma rede de fibrina obtida fisiologicamente.<sup>15</sup>**



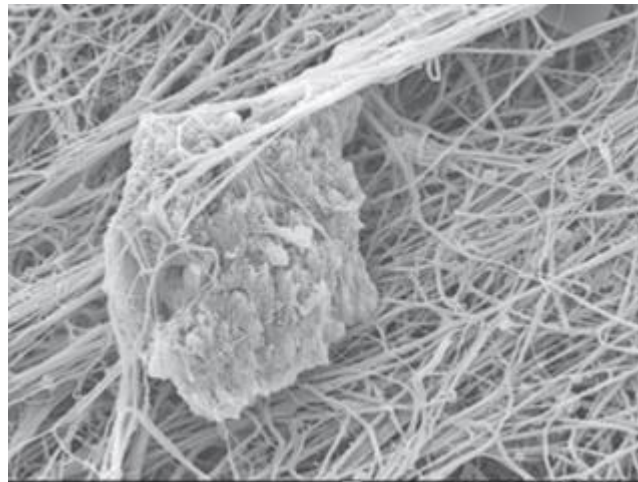
**Figura 15: Imagem de uma rede de fibrina obtida com um agregado leucoplaquetário.<sup>16</sup>**

Oliveira et al. (2017) e Oliveira et al. (2018) realizaram imagens por meio de microscopia eletrônica de varredura que mostram que durante a aglutinação de compósitos mineralizados com o i-prf (Sticky Bone™) houve a manutenção da integridade celular e plaquetária. Além disso, uma significativa impregnação dos poros do biomaterial com fibrilas de fibrina e micropartículas plaquetária foi notada nas imagens, juntamente com uma maior estabilidade mecânica do biomaterial, graças a densidade da rede de fibrina, como mostrado nas figuras 16 e 17.

<sup>15-16</sup> Fonte: OLIVEIRA et al. (2018).

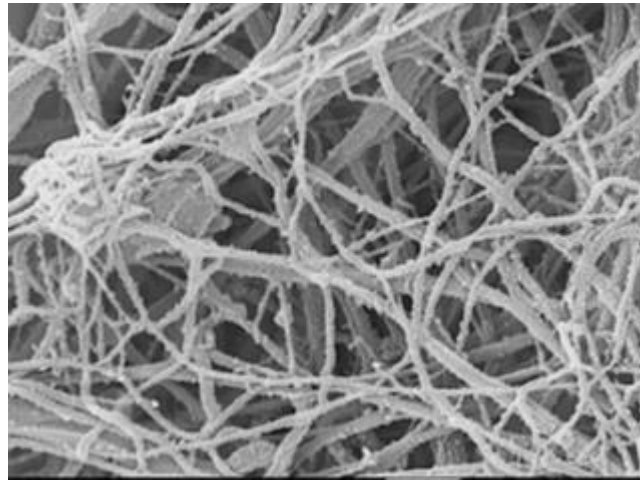


**Figura 16: Micrografia com aumento de 1700x. Densa malha de fibrina nas margens do campo e ao centro a penetração da fibrina nos poros do biomaterial. Plaquetas ativadas e uma hemácea ao fundo com integridade morfológica evidenciada.<sup>17</sup>**



**Figura 17: Micrografia obtida por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) com aumento de 3500x. Densa malha de fibrina ao fundo e um pequeno fragmento de biomaterial. "capturado" pela rede de fibrina.<sup>18</sup>**

<sup>17-18</sup> Fonte: OLIVEIRA et al. (2017).



**Figura 18: Micrografia com aumento de 14000x. Densa rede de fibrina com evidente incorporação de proteínas e micropartículas sobre a superfície das fibrilas de fibrina.<sup>19</sup>**

Além destas vantagens, a rede de fibrina obtida com o Sticky Bone™ apresenta concentrações muito mais elevadas de fatores de crescimento, os quais estão diretamente ligados ao processo de angiogênese, potencializando assim a irrigação, nutrição e defesa da região em processo de reparação. Miron et al. (2017) e Oliveira et al. (2017) explicam que este fato é possível pois os fatores de crescimento dependem da rede de fibrina como arcabouço de suporte e proteção proteolítica. Como no i-PRF esta rede é mais densa, suas funções são otimizadas, tornando possível uma maior presença dos fatores de crescimento e conseqüentemente uma liberação lenta e estendida dos mesmos.

A redução de custos é outro benefício proporcionado pela utilização do Sticky Bone™, pois o resultado final é um biomaterial com alta estabilidade tridimensional, com capacidade de se manter no leito receptor, reduzindo assim os custos do procedimento e aumentando sua segurança e previsibilidade, já que o risco de exposição e contaminação do enxerto se torna inexistente (SOHN et al., 2015).

Outro ponto a favor deste agregado sanguíneo é a segurança de sua preparação, sem manipulação bioquímica do sangue, o que elimina as chances de reações imunogênicas e transmissão de doenças. Alguns trabalhos apontam, ainda, a contribuição dos leucócitos nesse biomaterial, tanto pela sua ação anti-infecciosa, quanto pela ação de regulação imune (SILVERTHORN, 2003; SEELEY; STEPHENS; TATE, 2005; DA COSTA et al., 2012).

<sup>19</sup> Fonte: OLIVEIRA et al. (2018).

## 5 CONCLUSÃO

A utilização conjunta de compósitos mineralizados e do i-PRF para a obtenção do Sticky Bone é uma alternativa que traz inúmeros benefícios aos procedimentos de enxertia. Devido à baixa complexidade da técnica, este se torna um procedimento de fácil reprodução, não exigindo do profissional grande habilidade técnica para realizá-la, além disso a mesma apresenta um baixo custo o que a torna ainda mais viável e condizente com a realidade diária do consultório odontológico.

No caráter microbiológico o Sticky Bone afeta positivamente o resultado pós-cirúrgico. Isso se deve ao fato de que o mesmo leva, de forma direta e imediata, ao leito receptor células de defesa reduzindo a chance de infecções causadas por agentes nocivos. Outro fato de extrema importância é que ao utilizarmos o Sticky Bone aceleramos drasticamente o processo de hemostasia e coagulação, isso porque levamos um coágulo potencializado ao local da cirurgia, não necessitando esperar que o organismo forme um de forma fisiológica, dando portanto um salto de três dias no processo de cicatrização e conseqüentemente pulando a fase mais crítica do processo inflamatório.

Sobre a estrutura do Sticky Bone, é importante ressaltar que o mesmo apresenta uma rede de fibrina muito mais densa e melhor estruturada que a de um coágulo fisiológico, sendo esta um meio muito mais propício para a acomodação das células neoformadoras, responsáveis pela regeneração óssea na região enxertada e para a estabilização dos compósitos mineralizados no local. Outro ponto importante é a presença em concentrações mais elevadas de fatores de crescimento neste agregado, os quais são fundamentais na neovascularização e na quimiotaxia de células neoformadoras para a região de enxertia.

Assim sendo a utilização do Sticky Bone em procedimentos de enxertia odontológica mostra ser uma técnica totalmente segura e que otimiza de forma significativa os procedimentos em si, trazendo inúmeros benefícios aos envolvidos no mesmo.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBAS, A. K. et al. **Robbins patologia básica**. 8. ed. São Paulo: Elsevier, 2008. 1048 p.

AGRAWAL, M; AGRAWAL, V. Platelet Rich Fibrin and its applications in dentistry- a review article. **National Journal of Medical and Dental Research**, v. 2, n. 3, p. 51-8, apr/jun. 2014.

ALIJOTAS-REIG, J.; FERNÁNDEZ-FIGUERAS, M. T; PUIG, L. Inflammatory, immune-mediated adverse reactions related to soft tissue dermal fillers. **Semin Arthritis Rheum**. v. 43, n. 2, p. 241-58, oct. 2013.

BARRETO, M. A. et al. **Evidências científicas em estética e osseointegração**. 1. ed. São Paulo: Napoleão editora, 2013. 616 p.

CAMARGO, G. A. C. G. et al. Utilização do plasma rico em plaquetas na odontologia. **Odontol. Clín.-Cient.**, Recife, v. 11, n. 3, p. 187-90, jul./set. 2012.

CARVALHO, P. S. P.; BASSIA, A. P. F.; VIOLIN, L. A. Revisão e proposta de nomenclatura para os biomateriais. **Implant News.**, v. 1, n. 3, p. 255-9. 2004.

CHOUKROUN, J. et al. Platelet-richfibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part V: histologic evaluations of PRF effects on bone allograft maturation in sinus lift. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.**, v. 101, n. 3, p. 299-303, mar. 2006.

DA COSTA et al. Características dos agregados plaquetários e indicações da L-PRF na cirurgia oral. **ImplantNews**, v. 9, n. 4, p. 519-26. 2012.

DOHAN, D. M. et al. Platelet-richfibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part II: platelet-related biologic features. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.**, v. 101, n. 3, p. 45-50, mar. 2006.

EHRENFEST, D. M. D.; RASMUSSEN, L.; ALBREKTSSON, T. Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF). **Trends Biotechnol.**, v. 27, n. 3, p. 158-167, mar. 2008.

FARDIN, A. C. et al. Enxerto ósseo em odontologia: revisão de literatura. **Innov Implant J. Biomater Esthet.**, São Paulo, v. 5, n. 3, p. 48-52, set./dez. 2010.

FERREIRA, C. N. et al. O novo modelo da cascata de coagulação baseado nas superfícies celulares e suas implicações. **Rev Bras Hematol Hemoter**. v. 32, n. 5, p. 416-21. 2010.

FRANCO, R. F. Fisiologia da coagulação, anticoagulação e fibrinólise. **Medicina**, Ribeirão Preto, v. 34, p. 229-37, jul/dec. 2001.

FREYMILLER, E. G; AGHALOO, T. L. Platelet-rich plasma: ready or not?. **J Oral Maxillofac Surg.**, v. 62, n. 4, p. 484-8, apr. 2004.

[Digite texto]

FUJIOKA-KOBAYASHI, M. et al. Optimized platelet-rich fibrin with the low-speed concept: growth factor release, biocompatibility, and cellular response. **Journal of Periodontology**, v. 88, n. 1, p. 112–21, jan. 2016.

GHANNATI, S. et al. Advanced platelet-rich fibrin: a new concept for cell-based tissue engineering by means of inflammatory cells. **Journal of Oral Implantology**, v. 40, n. 6, p. 679-89. 2014.

JANUÁRIO, A. L. et al. Dimension of the facial bone wall in the anterior maxilla: a cone-beam computed tomography study. **Clin Oral Implants Res.**, v. 22, n. 10, p. 1168-71, out. 2011.

LEE, J. W. et al. Restoration of a peri-implant defect by platelet-rich fibrin. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol.**, v.113, n.4, p.459-63, apr. 2012.

LORENZ, H.; LONGAKER, M. Wound healing: repair biology and wound and scar treatment. In: MATHES, S. J. (Ed.). **Plastic surgery**. v. 2. Philadelphia: W.B Saunders, 2006. p. 209-30.

MARX, E. R. et al. Platelet-rich plasma: growth factor enhancement for bone grafts. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.**, v. 85, n. 6, p. 638-46, jun. 1998.

MASUKI, H. et al. Growth factor and pro-inflammatory cytokine contents in platelet-rich plasma (PRP), plasma rich in growth factors (PRGF), advanced platelet-rich fibrin (A-PRF), and concentrated growth factors (CGF). **Internacional Journal of Implant Dentistry**. v. 2, n. 1, p. 19-25, dec. 2016.

MENDONÇA, R. J; COUTINHO-NETO, J. Aspectos celulares da cicatrização. **Anais Brasileiros de Dermatologia**, Rio de Janeiro, v. 84, n. 3, p. 257-62, jul. 2009.

MIRON, R. J. et al. Injectable platelet rich fibrin (i-PRF): opportunities in regenerative dentistry?. **Clinical Oral Investigations**, v. 21, n. 8, p. 2619–27, nov. 2017.

MOURÃO, C. F. A. B. et al. Obtenção da fibrina rica em plaquetas injetável (i-PRF) e sua polimerização com enxerto ósseo: nota técnica. **Rev. Col. Bras. Cir.**, Rio de Janeiro, v. 42, n. 6, p. 421-3, dec. 2015.

OLIVEIRA, L. A. Sticky Bone™. Um compósito mineralizado em matriz de fibrina. Conceitos fundamentais, metodologia, caracterização morfológica por microscopia eletrônica de varredura e caso clínico. In: ROSSETTI, P. H. O.; BONACHELA, W. C. (org.). **Os novos caminhos clínicos da implantoterapia**. 1. ed., v. 1, São Paulo: VM Cultural, 2017. p. 136-55.

OLIVEIRA, L. A. et al. Caracterização morfológica ultraestrutural da matriz de fibrina leucoplaquetária autóloga em associação com biomateriais xenógeno e aloplástico para enxertia óssea. Protocolo Fibrin®. **Revista Catarinense de Implantodontia**. n. 18. 2018.

PRAKASH, S.; THAKUR, A. Platelet concentrates: past, present and future. **J Maxillofac Oral Surg**, v. 10, n. 1, p. 45-9, mar. 2011.

ROSAMMA, J. V.; SAM, G.; VIJAY, A. N. Clinical evaluation of autologous platelet rich fibrin in horizontal alveolar bony defects. **Journal of Clinical and Diagnostic Research**. v. 8, n. 11, p. 43-7, nov. 2014.

SEELEY, R.; STEPHENS, R. P. T.; TATE, P. Regulação e manutenção. In: SEELEY, R.; STEPHENS, R. P. T.; TATE, P. **Anatomia & Fisiologia**, Lisboa: Lusociência, 2005. p. 651–78.

SILVERTHORN, D. U. Sangue. In: SILVERTHORN, D. U. **Fisiologia humana: uma abordagem integrada**. São Paulo: Ed. Manole, 2003. p. 474-95.

SIMONPIERI, A. et al. Simultaneous sinus-lift and implantation using microthreaded implants and leukocyte and platelet-rich fibrin as sole grafting material: a six-year experience. **Implant Dent.**, v. 20, n. 1, p. 2-12. 2011.

SOHN, D. S. et al. Utilization of autologous concentrated growth factors (CGF) enriched bone graft matrix (Sticky Bone) and CGF-enriched fibrin membrane in implant dentistry. **The Journal of Implant & Advanced Clinical Dentistry**. v. 7, n. 10, p. 11-29, dec. 2015.

TAZIMA, M. F. G. S; VICENTE, Y. A. M. V. A; MORIYA, T. Biologia da ferida e cicatrização. **Medicina**, Ribeirão Preto, v. 41, n. 3, p. 259-64. 2008.